

喻优,何春,成奋民,等. 基于丹磺酰胺荧光探针的设计合成及其对 Cys 和 H_2S 的区分检测[J]. 湖南科技大学学报(自然科学版), 2025, 40(1):109–117. doi:10.13582/j.cnki.1672–9102.2025.01.014

YU Y, HE C, CHENG F M, et al. Design and Synthesis of Fluorescent Probes Based on Dansulfonamide and the Differential Detection of Cys and H_2S [J]. Journal of Hunan University of Science and Technology (Natural Science Edition), 2025, 40(1): 109–117. doi:10.13582/j.cnki.1672–9102.2025.01.014

基于丹磺酰胺荧光探针的设计合成及其对 Cys 和 H_2S 的区分检测

喻优,何春,成奋民,郝远强,张培盛,陈述,曾荣今*

(湖南科技大学 化学化工学院, 湖南 湘潭 411201)

摘要:以对氨基苯酚、丹磺酰氯和4-氯-7-硝基苯并呋喃为原料,经两步反应制备了一种可选择性区分检测 H_2S 和 Cys 的新型荧光探针 DNs-PAP-NBD.结果表明:该探针具有双激发单发射荧光特征,在 477 nm 的激发下可专一性地检测 Cys,在 340 nm 的激发下可实现对 H_2S 的专一性响应.而且, H_2S 与探针的反应具有明显的颜色变化,还可利用比色法进行检测.探针对 H_2S 和 Cys 的响应快速,荧光强度变化对目标物浓度都具有良好的线性关系.对常见共存物和干扰物质的检测结果表明:探针对 Cys 和 H_2S 的检测具有良好的选择性和抗干扰能力.

关键词: 硫化氢;半胱氨酸;巯基化合物;荧光探针

中图分类号:TQ31; O63

文献标志码:A

文章编号:1672–9102(2025)01–0109–09

Design and Synthesis of Fluorescent Probes Based on Dansulfonamide and the Differential Detection of Cys and H_2S

YU You, HE Chun, CHENG Fenmin, HAO Yuanqiang, ZHANG Peisheng, CHEN Shu, ZENG Rongjin

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China)

Abstract: In this paper, a novel fluorescent probe DNs-PAP-NBD is synthesized from raw materials of p-aminophenol, dansyl chloride, and 4-chloro-7-nitrobenzofurazan. The probe DNs-PAP-NBD can be used for the discriminative detection of H_2S and Cys. The probe has dual-excitation and single-emission fluorescence characteristics, and can specifically detect Cys under excitation at 477 nm, and can specifically respond to H_2S under excitation at 340 nm. Moreover, the reaction between the probe and H_2S can generate an obvious color change, thus DNs-PAP-NBD can also be applied as a colorimetric assay for H_2S . The probe has a quick response to Cys and H_2S , and the fluorescence signal has a good linear relationship with the concentration of the target. The selective and competitive experiments have further demonstrated that DNs-PAP-NBD has a good selectivity and anti-interference ability for the detection of Cys and H_2S .

Keywords: hydrogen sulfide; cysteine; sulfhydryl compound; fluorescent probe

半胱氨酸(Cys)是一种含有巯基的必需氨基酸,可作为抗氧化剂清除活性氧(ROS)来避免氧化损伤,

收稿日期:2023–04–25

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(51873058;52273290)

* 通信作者, E-mail: ztjxh2@126.com

对维持正常的生理功能起着至关重要的作用^[1].同时,Cys 浓度水平的异常与生物体中的许多疾病密切相关,包括发育迟缓、肝脏疾病、心血管和癌症等一系列生理疾病^[2-5].硫化氢(H_2S)是一种传递生理信号的气体分子,在神经传递、抗炎症、保护神经免受氧化应激、调节氧化还原状态等生理病理过程中发挥着重要作用^[6].细胞中 H_2S 浓度水平的异常与脑卒中、阿尔茨海默病症、心血管疾病、糖尿病、肝硬化等多种疾病有关^[7-11].与传统的检测方法相比,荧光探针具有灵敏度高、检测速度快、检测限低和原位成像等优点,是生物医学成像中最常用的成像方法之一^[12].Cys 荧光探针的设计策略有与席夫碱 $\text{C}=\text{N}$ 键反应^[13]、与卤素的反应^[14]、与醛的环化反应^[15]、磺胺或磺酸酯键的断裂^[16]、与丙烯酸酯的加成-环化-裂解反应^[17]和与马来酰亚胺的 Michael 加成反应^[18]等; H_2S 荧光探针的设计策略有叠氮和硝基还原^[19]、亲核反应^[20]、羟胺还原^[21]、二硫键交换^[22]、 CuS 沉淀^[23]和 2,4-二硝基苯醚的磺解和硝基苯并呋喃(NBD)^[24]等.Cys 和 H_2S 具有相似的性质,如亲核性、还原性等,且常常和 GSH, Hcy 等共存于生物体内,这就导致在对它们进行检测时容易相互干扰.基于此,本文设计合成了一种能高选择性地区分检测 Cys 和 H_2S 的荧光探针,该探针有双发色荧光团,在不同的激发(340 和 477 nm)下对 Cys 或 H_2S 响应表现出不同的荧光光谱特征,且吸收光谱性质也不同,联合 2 种方法可对 Cys 和 H_2S 进行区分检测,具有良好的选择性和抗干扰能力.

1 试验部分

1.1 合成方法

探针分子的合成分为 2 步.首先,以丹磺酰氯(DNs-Cl)和对氨基苯酚(PAP)为原料,吡啶为催化剂合成化合物 5-(二甲基氨基)-N-(4-羟基苯基)萘-1-磺胺(DNs-PAP);然后,再以 DNs-PAP 和 4-氯-7-硝基苯并呋喃(NBD-Cl)为原料,N,N-二异丙基乙胺(DIEA)为催化剂反应得到了最终产物 5-(二甲基氨基)-N-(4-(7-硝基-2H-苯并[d]咪唑-4-基)氧)苯基)萘-1-磺胺(DNs-PAP-NBD).合成路线如图 1 所示.

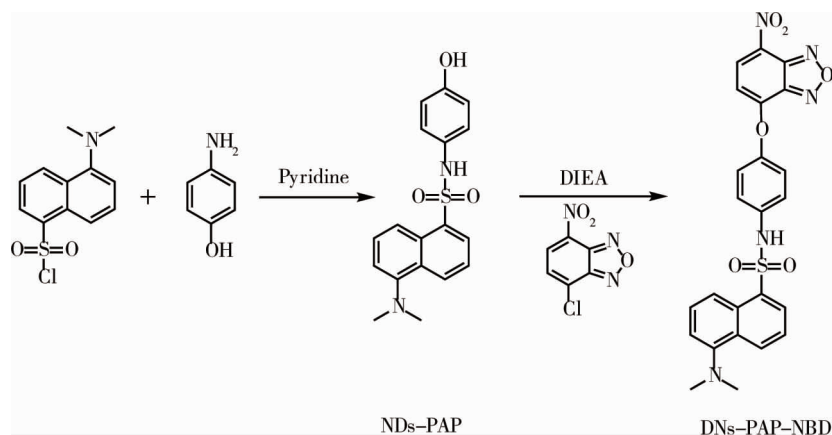


图 1 DNs-PAP-NBD 的合成路线

1.2 仪器和试剂

仪器:Bruker Avance 400 MHz 核磁共振仪(美国布鲁克公司)、Finnigan LCQ Advantage MAX 质谱分析仪(赛默飞世尔科技公司)、RF-5301pc 型荧光光谱仪(日本岛津公司)、UV-2501PC 型 UV-Vis 吸收光谱仪(日本岛津公司)、EL-20 型 pH 计(梅特勒托利仪器有限公司).

试剂:4-氨基苯酚(96%)、丹磺酰氯(97%)、N,N-二异丙基乙胺(99.5%)、吡啶(99.5%)和 4-氯-7-硝基苯并呋喃(98%)购自萨恩化学技术(上海)有限公司,四氢呋喃、石油醚、二氯甲烷、二甲基亚砜和无水乙醇(分析纯,AR,国药集团化学试剂有限公司).

1.3 DNs-PAP-NBD 的合成与表征

参考文献[25],以丹磺酰氯和对氨基苯酚为原料,吡啶为催化剂合成化合物 DNs-PAP.将 DNs-PAP(103 mg, 0.3 mmol)加入 100 mL 三颈烧瓶中,加入 10 mL 四氢呋喃搅拌溶解,然后加入 DIEA(75 μL , 0.45 mmol),氮气保护下室温搅拌,再将 NBD-Cl(90 mg, 0.45 mmol)慢慢滴加到 100 mL 三颈烧瓶中,滴加完毕,在室温下继

续搅拌反应 24 h.反应完成后,减压蒸馏除去四氢呋喃,再用二氯甲烷溶解,所得溶液用蒸馏水洗涤 2~3 次,减压蒸馏除去二氯甲烷,真空干燥 24 h.所得粗产物以石油醚:乙酸乙酯=5:1(*v/v*)为展开剂,通过柱层析法进一步纯化,得到棕黄色固体 DNs-PAP-NDB.探针分子的结构通过质谱和核磁共振氢谱、碳谱进行了表征,如图 2 所示.¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.93 (s, 1H), 8.55 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.48 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.27 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.25 (dd, *J* = 15.9, 6.6 Hz, 5H), 6.55 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 2.82 (s, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 153.30, 151.51, 148.31, 145.22, 144.26, 136.36, 135.42, 134.74, 130.31, 130.12, 129.74, 128.98, 128.27, 123.58, 121.72, 120.61, 118.54, 115.31, 109.17, 45.02.

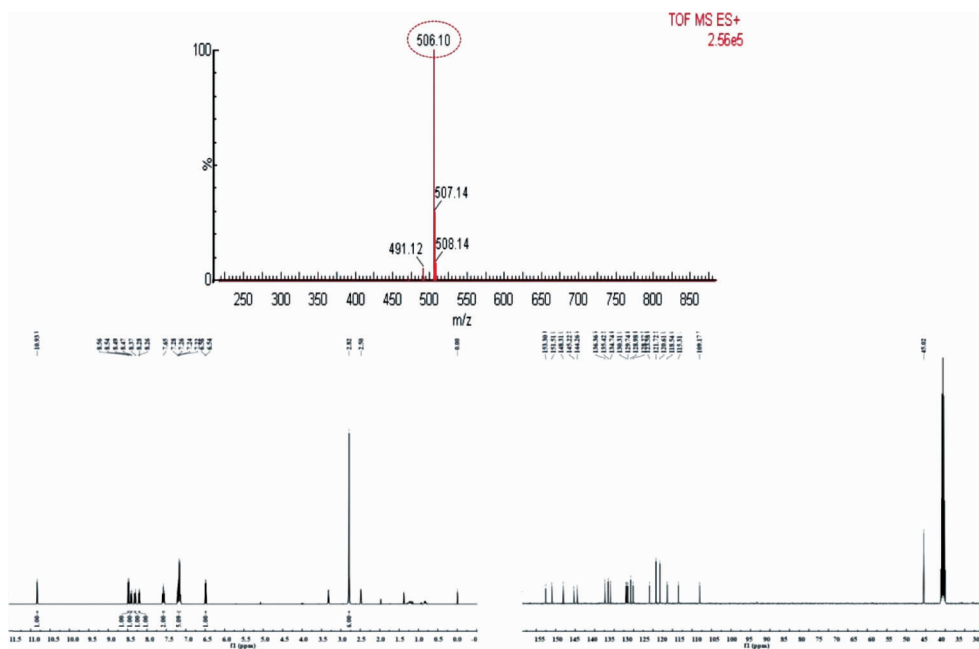


图 2 DNs-PAP-NBD 的结构表征

1.4 测试过程

称取 10.0 mg 探针分子,用二甲基亚砷定容于 10 mL 容量瓶中,得到浓度为 2 mM 的探针母液.移取 25 μL 探针母液于 10 mL 试管中,添加 4 975 μL 二甲基亚砷,加入 0.5 mL 已经配制好的 HEPES 缓冲液 (pH=7.4, 10 mM),最后用去离子水定容至 10 mL,摇匀后得到浓度为 5 μM 的标准探针测试液,放置在 4 ℃ 冰箱中保存备用.选择激发波长为 344/477 nm,激发和发射波长的狭缝宽度均为 5 nm.

称取 12.1 mg 的 Cys,定容于 10 mL 容量瓶中,得到 10 mM 的 Cys 溶液,密封保存于冰箱中.其他浓度的 Cys 溶液通过 10 mM 的 Cys 溶液稀释得到.其他氨基酸和离子按相同方式配置得到.

2 结果与讨论

2.1 荧光性能

试验测试了探针 (5 μM) 测试液分别与 200 μM 的 Cys 和 H₂S 反应的荧光光谱.如图 3(a) 和图 3(b),在未加入 Cys/H₂S 时,探针基本没有荧光,当加入 Cys/H₂S 反应后,探针在不同的激发下,分别产生 2 个荧光团的荧光发射信号.加入 Cys 的探针测试液,在 477 或 340 nm 激发下均产生了显著的荧光增强响应, F/F_0 分别为 34 和 22, (注: F 表示在最大发射波长为 550 nm 处的荧光强度值, F_0 表示与 F 值相对应的空白溶液在最大发射波长为 550 nm 处的荧光强度值),但溶液颜色无明显变化;探针与 H₂S 反应后,只有在 340 nm 的波长激发时产生明显的荧光增强, F/F_0 为 14,且探针测试液出现了明显的粉红色.上述结果表明:探针不仅可实现 Cys/H₂S 的荧光检测,也可利用比色法对 Cys 与 H₂S 进行区分.

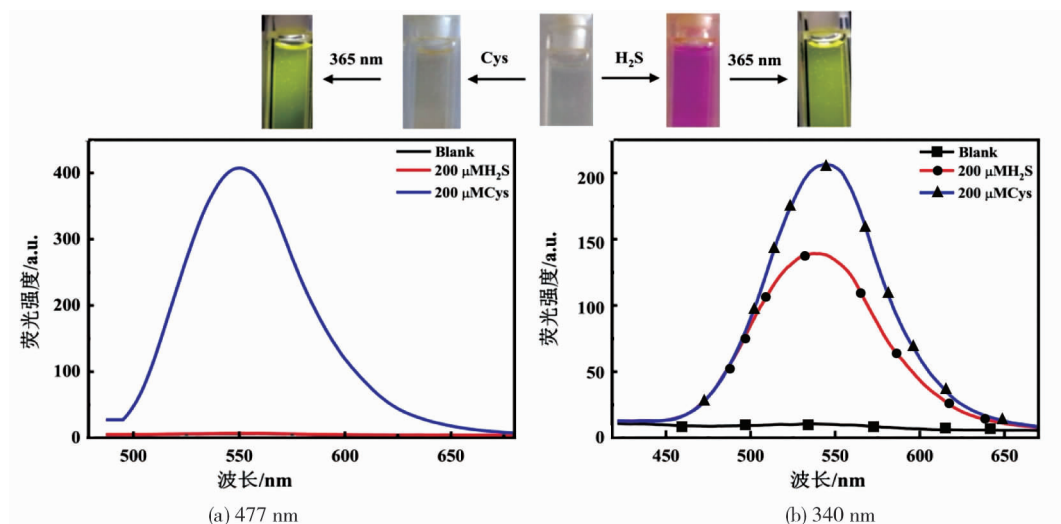


图3 探针在 477 和 340 nm 的激发下与 Cys 和 H_2S 反应的荧光光谱

2.2 响应时间

探针的反应时间是其检测效率的重要量度,为此,试验分别研究了探针对 Cys 和 H_2S 的响应动力学特征,结果如图 4 所示.在激发波长 $\lambda_{ex}=477\text{ nm}$ 和 $\lambda_{ex}=340\text{ nm}$ 下分别测试反应体系的荧光强度随时间的变化.探针分别与 4 种不同的生物硫醇反应后在 $\lambda_{ex}=477\text{ nm}$ 处不同时间的相对荧光强度如图 4(a) 所示,在 $\lambda_{ex}=340\text{ nm}$ 处不同时间的相对荧光强度如图 4(b) 所示.

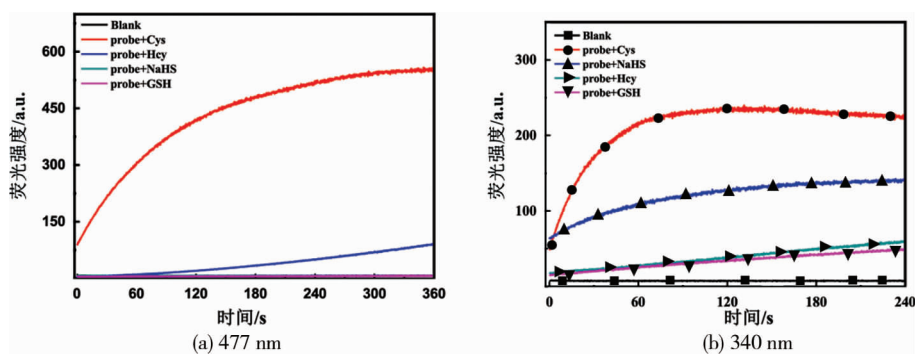
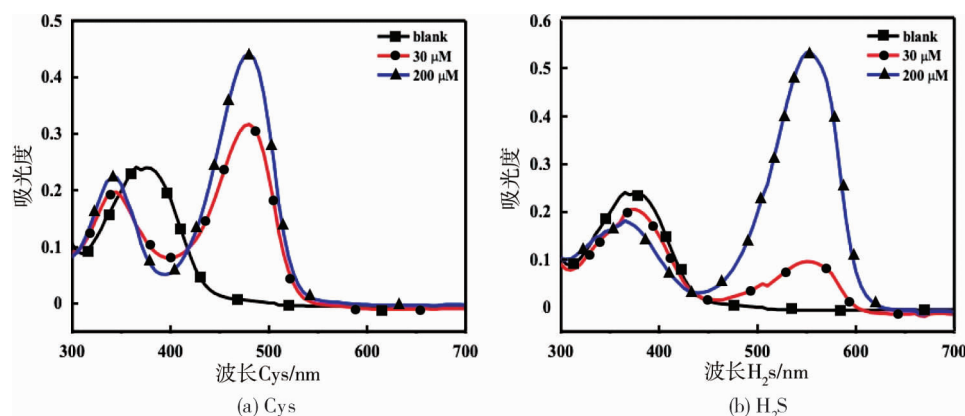


图4 探针在 477 和 340 nm 的激发下分别与 4 种生物硫醇(Cys, H_2S , GSH 和 Hcy)的时间响应曲线

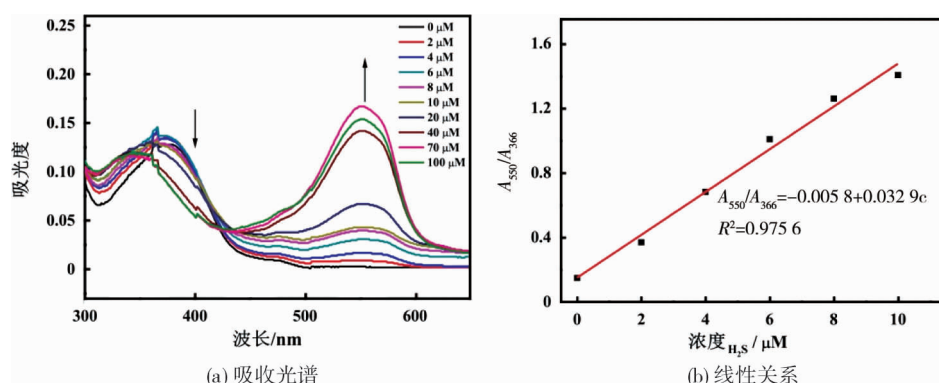
由图 4 可知:在 2 个激发波长处探针没有荧光且保持不变,说明探针自身具有良好的稳定性.在 $\lambda_{ex}=477\text{ nm}$ 处, Cys 与探针反应后体系的荧光强度在 300 s 时达到最大值,此时 Hcy 与探针反应的荧光强度很小,与 Cys 相比可忽略,而 GSH 与 H_2S 在此时荧光强度没有变化.另外,在 $\lambda_{ex}=340\text{ nm}$ 处, Cys, H_2S 与探针反应分别在 70, 150 s 时荧光强度达到最大, Hcy, GSH 与探针反应的荧光强度也很小.从试验结果来看,探针可以在短时间内对 Cys 和 H_2S 做定量的检测,首先用 $\lambda_{ex}=340\text{ nm}$, 测量出 Cys 和 H_2S 的总量,然后用 $\lambda_{ex}=477\text{ nm}$, 测量出 Cys 的量,用差减法可测得 H_2S 的量.后续试验主要针对在 340 nm 激发处对探针与 H_2S 反应和在 477 nm 激发处对探针与 Cys 反应进行荧光测定.

2.3 H_2S 的比色检测

试验测试了 HEPES 缓冲液(10 mM, pH=7.4)中,探针与 Cys/ H_2S (30 μM , 200 μM)反应前后的紫外吸收变化,测试结果如图 5 所示.通过对比发现,随着 H_2S 浓度的增大,在 550 nm 处出现了新的吸收带,吸光度随着浓度的增大而增大,在 366 nm 处吸光度随着浓度的增大逐渐减小;随着 Cys 浓度的增大,在 480 nm 处出现一条新的吸收带,吸光度随着浓度的增大而增大,在 366 nm 处吸光度随着浓度的增大逐渐减小,但是在 550 nm 处没有吸收.那么通过这一试验现象,可以绘制 A_{550}/A_{366} 与 H_2S 浓度的线性关系图来实现对 H_2S 的比色法检测.

图5 探针分别与 Cys 和 H₂S 反应的吸收光谱

进一步地对探针与不同浓度的 H₂S 反应后的体系进行了紫外-可见光谱测试,测试结果分别如图 6 所示. H₂S 的浓度分别为 0, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40, 70, 100 μM. 从图 6(a) 中可见, 在滴定过程中, 观察到吸收带在 366 nm 处随着 H₂S 浓度的增加逐渐减小, 在 550 nm 处随着 H₂S 浓度的增加逐渐增强. 通过绘制吸光度比值 (A_{550}/A_{366}) 与 H₂S 浓度的线性相关关系图, 如图 6(b) 所示, 在 0.010 1 ~ 10.000 0 μM 范围内, A_{550}/A_{366} 与 H₂S 浓度具有良好的线性关系, 其线性方程为 $A_{550}/A_{366} = -0.005\ 8 + 0.032\ 9c$, 线性回归系数 $R^2 = 0.975\ 2$, 检出限为 10.1 nM ($3\sigma/k$).

图6 探针与不同浓度 H₂S 反应后的紫外吸收光谱和线性关系

2.4 探针对 Cys 和 H₂S 的荧光响应测试

试验探究了探针对 Cys 和 H₂S 的响应效果. 分别向探针测试液中逐渐加入 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200 μM 的 Cys 和 H₂S, 分别以 477 和 340 nm 为激发波长, 根据荧光光谱计算在 $\lambda_{em} = 545$ nm 处的 F/F_0 , 得到不同浓度的目标物与 F/F_0 的线性关系, 根据这一线性关系, 作出拟合曲线.

图 7(a) 显示探针本身不具有荧光, 在逐渐增加 Cys 的浓度之后, 探针的荧光逐渐增强, 在达到 100 μM 之后, 荧光强度不再增大. 对 Cys 的浓度和相对荧光强度 F/F_0 作图, 发现 Cys 的浓度在 0.002 2 ~ 10.000 0 μM, 与 F/F_0 具有良好的线性关系, 根据这一线性关系, 进一步作出拟合曲线如图 7(b), 其线性方程为 $F/F_0 = 0.476\ 7 + 4.813\ 1c$, 线性回归系数 $R^2 = 0.981\ 7$, 检出限为 2.2 nM ($3\sigma/k$).

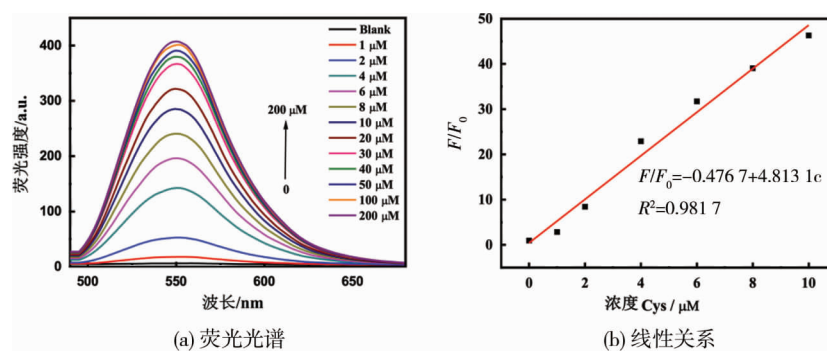


图7 探针与不同浓度 Cys 反应后的荧光光谱和线性关系

从图 8(a) 中结果显示,在逐渐增加 H_2S 的浓度之后,探针的荧光逐渐增强,在达到 $100\ \mu\text{M}$ 之后,荧光强度不再增大.对 H_2S 的浓度和相对荧光强度 F/F_0 作图,也发现 H_2S 的浓度在 $0.005\ 9\sim 10.000\ 0\ \mu\text{M}$ 范围内,与 F/F_0 具有良好的线性关系,根据这一线性关系,进一步作出拟合曲线如图 8(b),其线性方程为 $F/F_0=0.537\ 4+1.665\ 6c$,线性回归系数 $R^2=0.989\ 8$,检出限为 $5.9\ \text{nM}\ (3\sigma/k)$.

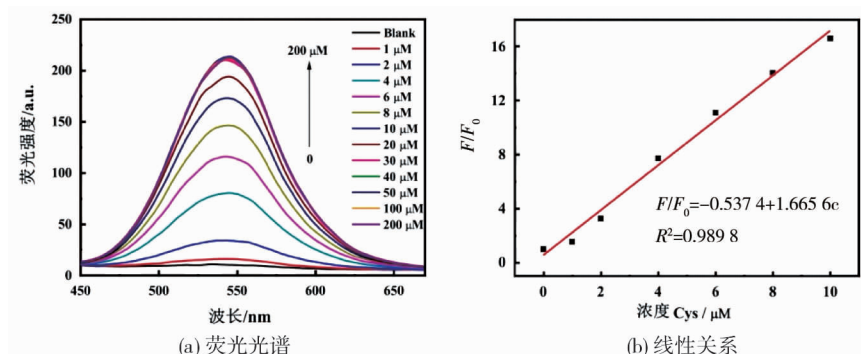


图 8 探针在 $\lambda_{\text{ex}}=340\ \text{nm}$ 随 H_2S 浓度变化的荧光光谱和线性关系

2.5 选择性

选择性是荧光探针的一个重要性能指标.为此,实验进行了探针的选择性测试(图 9).在 DMSO/HEPES($\text{pH}=7.4, 10\ \text{mM}$)缓冲溶液体系中,分别加入不同潜在干扰物或阴离子(Cys/ H_2S , Hcy, GSH, 苏氨酸(Thr), 甘氨酸(Gly), 丙氨酸(Ala), 组氨酸(His), Cl^- , F^- , Br^- , I^- , H_2PO_4^- , NO_2^- , NO_3^- , Ac^- , SO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, HSO_3^- , SO_3^{2-} , H_2O_2),比较在 $545\ \text{nm}$ 处荧光强度.其中 Cys, H_2S , Hcy, GSH 的浓度为 $200\ \mu\text{M}$,其他氨基酸与阴离子的浓度为 $2\ \text{mM}$,竞争性实验时的各自浓度保持不变.实验结果表明,在 $\lambda_{\text{ex}}=477\ \text{nm}$ 时,只有与 Cys 反应后荧光强度有明显的增加,与 Hcy 反应后荧光强度也有增加,但与 Cys 相比增加程度较小;在 $\lambda_{\text{ex}}=340\ \text{nm}$ 时,与 Cys 和 H_2S 反应后荧光强度都有明显的增加,与 Hcy 反应后荧光强度也有增加,增加幅度没有前两者大.这表明探针对 Cys 和 H_2S 具有相对较好的选择性.

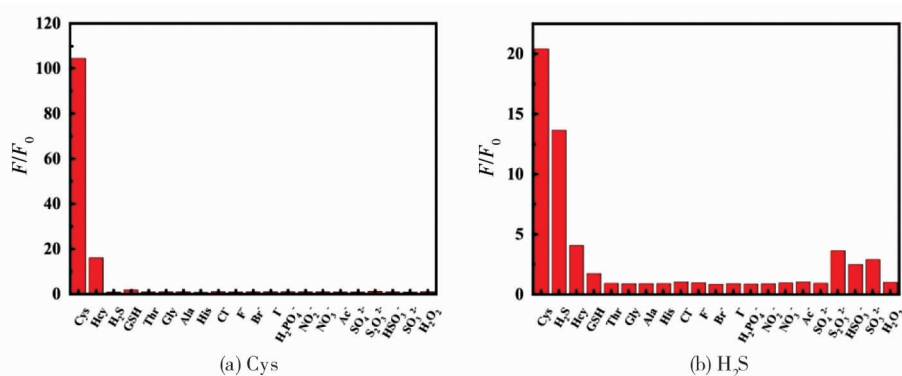
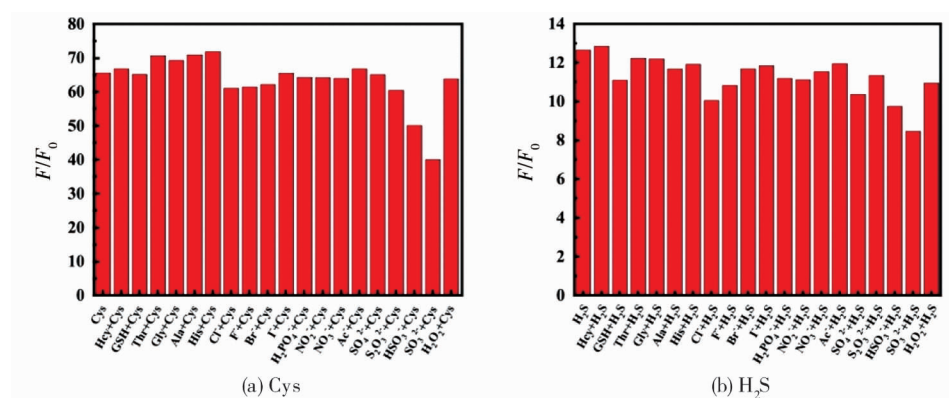


图 9 探针分别对 Cys 和 H_2S 的选择性实验荧光比率柱状图

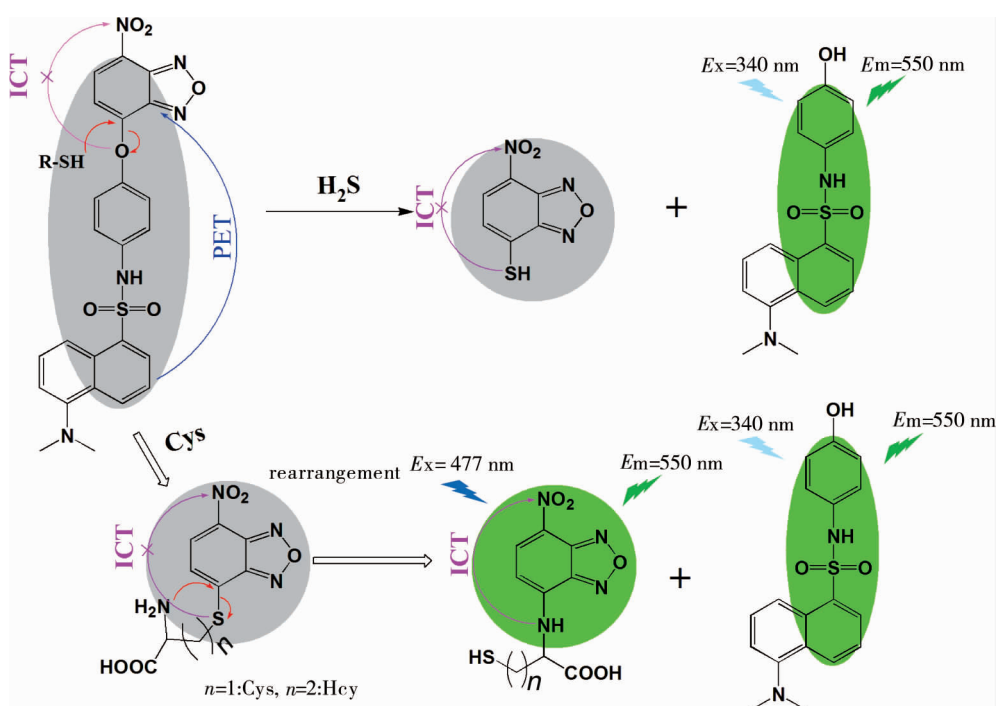
2.6 竞争性

探针对目标物的竞争性检测是在测试过程中有其他物种共存时的荧光响应特性,可体现出探针的抗干扰能力.试验测试了不同的干扰物共存体系(如图 10, 1~17 分别为 Cys/ H_2S , Cys/ H_2S +Hcy, Cys/ H_2S +GSH, Cys/ H_2S +Thr, Cys/ H_2S +Gly, Cys/ H_2S +Ala, Cys/ H_2S +His, Cys/ H_2S + Cl^- , Cys/ H_2S + F^- , Cys/ H_2S + Br^- , Cys/ H_2S + I^- , Cys/ H_2S + H_2PO_4^- , Cys/ H_2S + NO_2^- , Cys/ H_2S + NO_3^- , Cys/ H_2S + Ac^- , Cys/ H_2S + SO_4^{2-} , Cys/ H_2S + $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Cys/ H_2S + HSO_3^- , Cys/ H_2S + SO_3^{2-} , Cys/ H_2S + H_2O_2).由图 10 可知:探针与 Cys 或 H_2S 反应后荧光响应强度有明显的增加,而加入了其他共存物种后,荧光强度没有明显的变化.这证明了探针对 Cys 和 H_2S 的检测均具有很好的抗干扰能力.

图 10 探针分别检测 Cys 和 H₂S 的竞争性试验荧光比率柱状图

2.7 识别机理

图 11 为探针与 Cys 和 H₂S 的反应机理图.因为丹磺酰胺到硝基苯并呋喃的光诱导电子转移(PET)过程导致丹磺酰胺荧光的淬灭,而硝基苯并呋喃因为 4 位连接的是供电子能力很弱的苯氧基,ICT 过程受阻,也不发射荧光,所以,虽然探针含有 2 个荧光团,但并无荧光发射.但加入 Cys/H₂S 后,由于 Cys/H₂S 的亲核性,发生芳香亲核取代(ArSN)反应,导致 2 个荧光团的断裂,PET 过程受阻,ICT 过程恢复,在不同的激发下,分别产生 2 个荧光团的荧光发射信号.Hcy 和 Cys 与探针反应的过程由 2 步构成,第一步形成 S 取代的 NBD(NBD-SR),4 位取代基含有桥接 O,N,S 原子的衍生物发射非常弱,因此,产生的 NBD-SR 不具有荧光信号,同时生成具有强绿色荧光的 DNS-PAP;第二步因为与 Hcy 和 Cys 分别形成的 S 取代 NBD 不稳定,会发生 S-N smile 重排,分别形成更加稳定的六元环、五元环结构的氮取代 NBD,从而产生绿色荧光发射.Hcy 和 Cys 在激发波长 340 和 477 nm 处都有荧光响应,但是,因为 Hcy 比 Cys 多了 1 个亚甲基,位阻较大,所以 Hcy 比 Cys 与探针反应的速率要慢很多,因此可以利用反应动力学的差异将两者区分开来.而还原型谷胱甘肽 GSH 分子体积大,在进行第一步反应后,GSH 上的氨基距离硫原子太近或太远,不能形成稳定的五元环、六元环结构,无法进行 S-N smile 重排,反应停留在第一步,只有生成的 DNS-PAP 具有绿色荧光.H₂S 与探针反应迅速,但与 GSH 一样也没有重排,所以 GSH 和 H₂S 一样只在 340 nm 的激发波长下有响应.不同的是 H₂S 反应迅速,且变色明显,生成了粉红色的 4-巯基-7-硝基苯并呋喃.

图 11 探针对 Cys 和 H₂S 的识别机理

3 结论

1) 新型荧光探针 DNs-PAP-NBD 探针具有双激发单发射荧光性能,在 477 nm 的激发下可专一性地检测 Cys,联合 340 nm 的激发可实现 H₂S 的专一性检测.H₂S 与探针的反应具有明显的颜色变化,还可利用比色法进行检测.

2) 新型荧光探针 DNs-PAP-NBD 与 H₂S 和 Cys 的响应快速,在 0.002 2~10.000 0 μM 的浓度范围内,探针对 Cys 的检测具有良好的线性关系,线性方程为 $F/F_0 = 0.476\ 7 + 4.813\ 1c$,线性回归系数 $R^2 = 0.981\ 7$,检出限为 2.2 nM($3\sigma/k$);在 0.005 9~10.000 0 μM 的浓度范围内,探针对 H₂S 的检测具有良好的线性关系,线性方程为 $F/F_0 = 0.537\ 4 + 1.665\ 6c$,线性回归系数 $R^2 = 0.989\ 8$,检出限为 5.9 nM($3\sigma/k$).用比色法对 H₂S 进行测试,结果显示在 0.010 1~10.000 0 μM 范围内, A_{550}/A_{366} 与 H₂S 浓度具有良好的线性关系,其线性方程为 $A_{550}/A_{366} = -0.005\ 8 + 0.032\ 9c$,线性回归系数 $R^2 = 0.975\ 2$,检出限为 10.1 nM($3\sigma/k$).

3) 对常见共存物和干扰物质的检测结果表明:新型荧光探针 DNs-PAP-NBD 探针对于 Cys 和 H₂S 的检测具有良好的选择性和抗干扰能力.

参考文献:

- [1] DAUGHERTY A, DUNN J L, RATERI D L, et al. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions[J]. The Journal of Clinical Investigation, 1994, 94(1): 437-444.
- [2] KAUR N, CHOPRA S, SINGH G, et al. Chemosensors for biogenic amines and biothiols[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2018, 6(30): 4872-4902.
- [3] LAN J S, ZENG R F, LIU Y, et al. A near-infrared Nile red fluorescent probe for the discrimination of biothiols by dual-channel response and its bioimaging applications in living cells and animals[J]. The Analyst, 2019, 144(11): 3676-3684.
- [4] NIU H W, DUAN Y H, ZHANG Y Y, et al. A bifunctional fluorescent probe based on PET & ICT for simultaneously recognizing Cys and H₂S in living cells[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2022, 230: 112441.
- [5] YAN F Y, SUN X D, ZU F L, et al. Fluorescent probes for detecting cysteine[J]. Methods and Applications in Fluorescence, 2018, 6(4): 042001.
- [6] FAN J Y, PUNG E, LIN Y, et al. Recent development of hydrogen sulfide-releasing biomaterials as novel therapies: a narrative review[J]. Biomaterials Translational, 2022, 3(4): 250-263.
- [7] YIN D L, ZHAO X H, ZHOU Y, et al. Association between the ICAM-1 gene polymorphism and coronary heart disease risk: a meta-analysis[J]. Bioscience Reports, 2019, 39(2): BSR20180923.
- [8] LU H Y, HSU H L, LI C H, et al. Hydrogen sulfide attenuates aortic remodeling in aortic dissection associating with moderated inflammation and oxidative stress through a NO-dependent pathway[J]. Antioxidants, 2021, 10(5): 682.
- [9] HEBER S, FISCHER B, SALLABERGER-LEHNER M, et al. Effects of high-intensity interval training on platelet function in cardiac rehabilitation: a randomised controlled trial[J]. Heart, 2020, 106(1): 69-79.
- [10] VALLS-LACALLE L, NEGRE-PUJOL C, RODRÍGUEZ C, et al. Opposite effects of moderate and extreme Cx43 deficiency in conditional Cx43-deficient mice on angiotensin II-induced cardiac fibrosis[J]. Cells, 2019, 8(10): 1299.
- [11] WOLF D, LEY K. Immunity and inflammation in atherosclerosis[J]. Circulation Research, 2019, 124(2): 315-327.
- [12] JIANG C Y, HUANG H J, KANG X Y, et al. NBD-based synthetic probes for sensing small molecules and proteins: design, sensing mechanisms and biological applications[J]. Chemical Society Reviews, 2021, 50(13): 7436-7495.
- [13] DING S Y, LIU M J, HONG Y N. Biothiol-specific fluorescent probes with aggregation-induced emission characteristics[J]. Science China Chemistry, 2018, 61(8): 882-891.
- [14] YIN G X, NIU T T, YU T, et al. Simultaneous visualization of endogenous homocysteine, cysteine, glutathione, and their transformation through different fluorescence channels[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2019, 58(14): 4557-4561.
- [15] MAHAPATRA A K, MANNA S, KARMAKAR P, et al. Installation of efficient quenching groups of a fluorescent probe for

- the specific detection of cysteine and homocysteine over glutathione in solution and imaging of living cells[J]. *Supramolecular Chemistry*, 2017, 29(1): 59–68.
- [16] FAN L, ZHANG W J, WANG X D, et al. A two-photon ratiometric fluorescent probe for highly selective sensing of mitochondrial cysteine in live cells[J]. *The Analyst*, 2019, 144(2): 439–447.
- [17] ZHU D J, YAN X W, REN A S, et al. A novel colorimetric and ratiometric fluorescent probe for cysteine based on conjugate addition-cyclization-elimination strategy with a large Stokes shift and bioimaging in living cells[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1058: 136–145.
- [18] NOMURA N, NISHIHARA R, NAKAJIMA T, et al. Biothiol-activatable bioluminescent coelenterazine derivative for molecular imaging in vitro and in vivo[J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(15): 9546–9553.
- [19] ZHU X Y, WU H, GUO X F, et al. Novel BODIPY-based fluorescent probes with large Stokes shift for imaging hydrogen sulfide[J]. *Dyes and Pigments*, 2019, 165: 400–407.
- [20] HAN Q X, MOU Z L, WANG H H, et al. Highly selective and sensitive one- and two-photon ratiometric fluorescent probe for intracellular hydrogen polysulfide sensing[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(14): 7206–7212.
- [21] XUAN W M, PAN R, CAO Y T, et al. A fluorescent probe capable of detecting H₂S at submicromolar concentrations in cells[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(86): 10669–10671.
- [22] XU Z, XU L, ZHOU J, et al. A highly selective fluorescent probe for fast detection of hydrogen sulfide in aqueous solution and living cells[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(88): 10871–10873.
- [23] QU X Y, LI C J, CHEN H C, et al. A red fluorescent turn-on probe for hydrogen sulfide and its application in living cells[J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(68): 7510–7512.
- [24] WANG J M, YU H, LI Q, et al. A BODIPY-based turn-on fluorescent probe for the selective detection of hydrogen sulfide in solution and in cells[J]. *Talanta*, 2015, 144: 763–768.
- [25] 朱江华, 江沛, 徐鹏飞. 一种基于 d-PeT 机制高选择性识别硫化氢的丹磺酰类荧光探针[J]. *中南药学*, 2017, 15(9): 1205–1209.